

JP1995113001A

1995-5-2

Bibliographic Fields

Document Identity

(19)【発行国】
日本国特許庁(JP)

(12)【公報種別】
公開特許公報(A)

(11)【公開番号】
特開平7-113001

(43)【公開日】
平成7年(1995)5月2日

Public Availability

(43)【公開日】
平成7年(1995)5月2日

Technical

(54)【発明の名称】
新規多糖体及び該多糖体を有効成分とする放射線防護剤

(51)【国際特許分類第6版】
C08B 37/00 Q 7433-4C
A61K 31/715 AGZ 9454-4C
35/78 ABY N 8217-4C

【請求項の数】
16

【出願形態】
OL

【全頁数】
8

Filing

【審査請求】
未請求

(21)【出願番号】
特願平6-38814

(22)【出願日】
平成6年(1994)3月9日

【新規性喪失の例外の表示】

(19) [Publication Office]

Japan Patent Office (JP)

(12) [Kind of Document]

Unexamined Patent Publication (A)

(11) [Publication Number of Unexamined Application]

Japan Unexamined Patent Publication Hei 7- 113001

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1995 (1995) May 2*

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1995 (1995) May 2*

(54) [Title of Invention]

**RADIATION PROTECTION AGENT WHICH
DESIGNATES NOVEL POLYSACCHARIDE AND
SAID POLYSACCHARIDE AS ACTIVE INGREDIENT**

(51) [International Patent Classification, 6th Edition]

C08B 37/00 Q 7433-43-

A61K 31/715 AGZ 9454-44-

35/78 ABY N 8217-4C

[Number of Claims]

16

[Form of Application]

OL

[Number of Pages in Document]

8

[Request for Examination]

Unrequested

(21) [Application Number]

Japan Patent Application Hei 6- 38814

(22) [Application Date]

1994 (1994) March 9*

[Permission of Grace Period]

JP1995113001A

1995-5-2

特許法第30条第1項適用申請有り 平成5年9月10日 日本生薬学会発行の「日本生薬学会第40回年会講演要旨集」に発表

Japan Patent Law Article 30 Claim 1 ***** 1993 September 10* Japan natural medicine association *****Japan natural medicine association 40th annual meeting lecture abstracts *****

Foreign Priority

(31)【優先権主張番号】

特願平5-227799

(32)【優先日】

平5(1993)8月23日

(33)【優先権主張国】

日本(JP)

(31) [Priority Application Number]

Japan Patent Application Hei 5- 227799

(32) [Priority Date]

1993 (1993) August 23*

(33) [Priority Country]

Japan (JP)

Parties

Applicants

(71)【出願人】

【識別番号】

000003665

【氏名又は名称】

株式会社ツムラ

【住所又は居所】

東京都中央区日本橋3丁目4番10号

(71) [Applicant]

[Identification Number]

000003665

[Name]

TSUMURA & AMP; CO. (DB 69-060-0077)

[Address]

Tokyo Chuo-ku Nihonbashi 3-4-10

(71)【出願人】

【識別番号】

390027214

【氏名又は名称】

社団法人北里研究所

【住所又は居所】

東京都港区白金5丁目9番1号

(71) [Applicant]

[Identification Number]

390027214

[Name]

KITASATO INSTITUTE

[Address]

Tokyo Minato-ku platinum 5-Chome 9-1

Inventors

(72)【発明者】

【氏名】

山田 陽城

【住所又は居所】

東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人 北里研究所 東洋医学総合研究所内

(72) [Inventor]

[Name]

Yamada **

[Address]

Tokyo Minato-ku platinum 5-Chome 9-1 Kitasato Institute
Toyo medicine Central Research Laboratory *

(72)【発明者】

【氏名】

(72) [Inventor]

[Name]

清原 寛章

【住所又は居所】

東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人 北里研究所 東洋医学総合研究所内

(72)【発明者】

【氏名】

米澤 司郎

【住所又は居所】

大阪府堺市三原台2丁目4番10号

(72)【発明者】

【氏名】

篠原 精一

【住所又は居所】

東京都千代田区二番町12-7 株式会社ツムラ内

Agents

(74)【代理人】

【弁理士】

【氏名又は名称】

平木 祐輔 (外2名)

Abstract

(57)【要約】

【構成】

アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクトン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含み、分子量が $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体及び該多糖体を有効成分とする放射線防護剤。

【効果】

造血機能を改善する作用を有し、放射線防護剤として有用な新規多糖体が提供される。

Claims

【特許請求の範囲】

【請求項1】

アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクトン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含み、分子量が

Kiyohara **

[Address]

Tokyo Minato-ku platinum 5-Chome 9-1 Kitasato Institute
Toyo medicine Central Research Laboratory *

(72) [Inventor]

[Name]

Yonezawa Shiro

[Address]

Osaka Prefecture Sakai City Mihara table 2-Chome 4*10*

(72) [Inventor]

[Name]

Shinohara Seiichi

[Address]

Tokyo Chiyoda-ku Nibancho 12- 7 Tsumura & Co. (DB
69-060-0077) *

(74) [Attorney(s) Representing All Applicants]

[Patent Attorney]

[Name]

Hiraki Yusuke (2 others)

(57) [Abstract]

[Constitution]

Respectively as 1 mole % or more constituent sugar including arabinose , galactose , glucose , rhamnose , galacturonic acid and glucuronic acid , radiation protection agent . which designates polysaccharide and said polysaccharide where molecular weight is $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ as active ingredient

[Effect(s)]

It possesses action which improves hematopoiesis performance, useful novel polysaccharide is offered as radiation protection agent .

[Claim(s)]

[Claim 1]

Respectively as 1 mole % or more constituent sugar including arabinose , galactose , glucose , rhamnose , galacturonic acid and glucuronic acid , polysaccharide . where molecular

$5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体。

【請求項 2】

更に、マンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース及び 2-メチルキシロースを構成糖として含む請求項 1 記載の多糖体。

【請求項 3】

構成糖のモル比が、アラビノース 10.0~30.0、ガラクトース 10.0~30.0、マンノース 0.5~4.0、グルコース 2.5~15.0、ラムノース 7.0~18.0、ガラクトン酸 17.0~47.0、グルクロン酸 3.0~11.0、フコース 0.5~2.5、2-メチルフコース 0.01~0.6、キシロース 0.2~2.0、2-メチルキシロース 0.3 以下である請求項 2 記載の多糖体。

【請求項 4】

構成糖のモル比が、アラビノース約 13.0、ガラクトース約 12.1、マンノース約 1.8、グルコース約 3.8、ラムノース約 15.0、ガラクトン酸約 46.0、グルクロン酸約 5.6、フコース約 0.8、2-メチルフコース約 0.4、キシロース約 1.3、2-メチルキシロース約 0.2 で、分子量が約 2.6×10^5 である請求項 3 記載の多糖体。

【請求項 5】

構成糖のモル比が、アラビノース約 29.3、ガラクトース約 22.8、マンノース約 0.8、グルコース約 5.8、ラムノース約 14.7、ガラクトン酸約 20.4、グルクロン酸約 3.4、フコース約 1.2、2-メチルフコース約 0.03、キシロース約 1.3、2-メチルキシロース約 0.2 で、分子量が約 8.8×10^5 である請求項 3 記載の多糖体。

【請求項 6】

構成糖のモル比が、アラビノース約 20.3、ガラクトース約 28.5、マンノース約 2.8、グルコース約 7.7、ラムノース約 7.7、ガラクトン酸約 19.5、グルクロン酸約 10.9、フコース約 1.5、2-メチルフコース約 0.02、キシロース約 1.0、2-メチルキシロース約 0.02 で、分子量が約 8.8×10^4 である請求項 3 記載の多糖体。

【請求項 7】

更に、マンノース、フコース、キシロース及び 2-メチルキシロースを構成糖として含む請求項 1 記

weight is $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$

[Claim 2]

Furthermore, mannose, fucose, 2-methyl fucose, xylose and 2-methyl xylose polysaccharide, which is stated in the Claim 1 which it includes as constituent sugar

[Claim 3]

mole ratio of constituent sugar, polysaccharide, which is stated in Claim 2 which is a arabinose 10.0~30.0, galactose 10.0~30.0, mannose 0.5~4.0, glucose 2.5~15.0, rhamnose 7.0~18.0, galacturonic acid 17.0~47.0, glucuronic acid 3.0~11.0, fucose 0.5~2.5, 2-methyl fucose 0.01~0.6, xylose 0.2~2.0, 2-methyl xylose 0.3 or less

[Claim 4]

mole ratio of constituent sugar, arabinose approximately 13.0, galactose approximately 12.1, mannose approximately 1.8, glucose approximately 3.8, rhamnose approximately 15.0, galacturonic acid approximately 46.0, glucuronic acid approximately 5.6, fucose approximately 0.8 and 2-methyl fucose approximately 0.4, xylose approximately 1.3 and 2-methyl xylose with approximately 0.2, polysaccharide, which is stated in Claim 3 where molecular weight is approximately 2.6×10^5

[Claim 5]

mole ratio of constituent sugar, arabinose approximately 29.3, galactose approximately 22.8, mannose approximately 0.8, glucose approximately 5.8, rhamnose approximately 14.7, galacturonic acid approximately 20.4, glucuronic acid approximately 3.4, fucose approximately 1.2 and 2-methyl fucose approximately 0.03, xylose approximately 1.3 and 2-methyl xylose with approximately 0.2, polysaccharide, which is stated in Claim 3 where molecular weight is approximately 8.8×10^5

[Claim 6]

mole ratio of constituent sugar, arabinose approximately 20.3, galactose approximately 28.5, mannose approximately 2.8, glucose approximately 7.7, rhamnose approximately 7.7, galacturonic acid approximately 19.5, glucuronic acid approximately 10.9, fucose approximately 1.5 and 2-methyl fucose approximately 0.02, xylose approximately 1.0 and 2-methyl xylose with approximately 0.02, polysaccharide, which is stated in Claim 3 where molecular weight is approximately 8.8×10^4

[Claim 7]

Furthermore, mannose, fucose, xylose and 2-methyl xylose polysaccharide, which is stated in the Claim 1 which it

載の多糖体。

【請求項 8】

構成糖のモル比が、アラビノース 10.0~30.0、ガラクトース 10.0~30.0、マンノース 0.5~4.0、グルコース 2.5~15.0、ラムノース 7.0~18.0、ガラクトン酸 17.0~47.0、グルクロン酸 3.0~11.0、フコース 0.5~2.5、キシロース 0.2~2.0、2-メチルキシロース 0.3 以下である請求項 7 記載の多糖体。

【請求項 9】

構成糖のモル比が、アラビノース約 24.7、ガラクトース約 19.4、マンノース約 1.4、グルコース約 3.3、ラムノース約 17.7、ガラクトン酸約 23.0、グルクロン酸約 8.8、フコース約 1.2、キシロース約 0.4、2-メチルキシロース約 0.01 以下で、分子量が約 8.6×10^5 である請求項 8 記載の多糖体。

【請求項 10】

構成糖のモル比が、アラビノース約 22.1、ガラクトース約 17.9、マンノース約 3.2、グルコース約 14.4、ラムノース約 11.2、ガラクトン酸約 18.1、グルクロン酸約 9.6、フコース約 1.9、キシロース約 1.6、2-メチルキシロース約 0.01 以下で、分子量が約 8.6×10^5 である請求項 8 記載の多糖体。

【請求項 11】

構成糖結合様式として、1,2 結合ラムノース、1,2,4 分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5 結合アラビノフラノース、1,3,5 分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6 結合ガラクトース、1,4 結合ガラクトース、1,4,6 分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び 1,4 結合ガラクトン酸を含む請求項 1~10 のいずれか 1 項に記載の多糖体。

【請求項 12】

請求項 1~11 のいずれか 1 項に記載の多糖体を有効成分として含有する放射線防護剤。

【請求項 13】

当帰の抽出物を有効成分として含有する放射線防護剤。

【請求項 14】

当帰の抽出物が熱水抽出エキスである請求項 13 記載の放射線防護剤。

includes as constituent sugar

[Claim 8]

mole ratio of constituent sugar , polysaccharide . which is stated in Claim 7 which is a arabinose 10.0~30.0, galactose 10.0~30.0, mannose 0.5~4.0, glucose 2.5~15.0, rhamnose 7.0~18.0, galacturonic acid 17.0~47.0, glucuronic acid 3.0~11.0, fucose 0.5~2.5, xylose 0.2~2.0, 2- methyl xylose 0.3 or less

[Claim 9]

mole ratio of constituent sugar , arabinose approximately 24.7, galactose approximately 19.4, mannose approximately 1.4, glucose approximately 3.3, rhamnose approximately 17.7, galacturonic acid approximately 23.0, glucuronic acid approximately 8.8, fucose approximately 1.2, xylose approximately 0.4 and 2 -methyl xylose with approximately 0.01 or less, polysaccharide . which is stated in Claim 8 where molecular weight is approximately 8.6×10^5

[Claim 10]

mole ratio of constituent sugar , arabinose approximately 22.1, galactose approximately 17.9, mannose approximately 3.2, glucose approximately 14.4, rhamnose approximately 11.2, galacturonic acid approximately 18.1, glucuronic acid approximately 9.6, fucose approximately 1.9, xylose approximately 1.6 and 2 -methyl xylose with approximately 0.01 or less, polysaccharide . which is stated in Claim 8 where molecular weight is approximately 8.6×10^5

[Claim 11]

As constituent sugar bonding mode , 1 and 2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and polysaccharide . which is stated in any one claim of Claim 1 ~10 which 1 and 4 -bond galacturonic acid is included

[Claim 12]

radiation protection agent . which contains polysaccharide which is stated in any one claim of the Claim 1 ~11 as active ingredient

[Claim 13]

radiation protection agent . which contains extract of Japanese angelica root as active ingredient

[Claim 14]

radiation protection agent . which is stated in Claim 13 where extract of Japanese angelica root is hot water extraction

【請求項 15】

有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である請求項 13 記載の放射線防護剤。

【請求項 16】

有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である請求項 13 記載の放射線防護剤。

Specification

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、放射線被曝による障害の治療及び予防に有用な造血機能改善作用を有する新規多糖体及び該多糖体の放射線防護剤としての用途に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年の技術革新に伴う、原子力発電所からの人工放射性核種、医療における放射線(X 線、 γ 線、中性子線、アイソトープ)、工業・農業等における放射線(γ 線)の利用等による放射線の被曝の危険は、地球的な環境問題、医療上の問題として注目されている。

【0003】

生体が大量の放射線を被曝した場合、即ち大量の放射線が生体内を通過すると生体組織の障害が生じる。

特に、全身あるいは腹部を含んだ広範囲に、短時間で大量の放射線を被曝すると発症してくる一連の症候群を急性放射線症候群という。

その症状は、線量に応じて標的臓器のそれぞれの症状が加算されて出現する。

10Gy(グレイ)以下の線量の被曝では、標的臓器は骨髓であるので白血球減少による感染症、血小板減少による出血傾向等が出現し、適切な治療をほどこさないと死に至る場合がある。

extract

【Claim 15】

radiation protection agent . which is stated in Claim 13 which is a polysaccharide of water-soluble where active ingredient is acquired from hot water extraction extract of Japanese angelica root

【Claim 16】

radiation protection agent . which is stated in Claim 13 which is a water insoluble polysaccharide where the active ingredient is acquired from hot water extraction extract of Japanese angelica root

【Description of the Invention】

【0001】

【Field of Industrial Application】

this invention regards application as radiation protection agent of novel polysaccharide and said polysaccharide which with radiation exposure possess useful hematopoiesis functional improving action in treatment and prevention of disorder .

【0002】

【Prior Art】

radiation which accompanies technical revolution of recent years, in artificial radioactivity nuclear specie , medicine from nuclear power plant (X-ray , γ -ray , neutron beam , isotope) , is observed hazard of exposure of the radiation with such as utilization of radiation (γ -ray) in industry *agriculture etc the global as problem on environmental problem , medicine .

【0003】

When organism exposure it does radiation of large scale , namely when radiation of large scale passes in-vivo , disorder of living tissue occurs.

Especially, when in broad range which includes whole body or abdomen , radiation of large scale exposure is done with short time the consecutive syndrome which pathopoiesis is done is called acute radiation syndrome .

disease appears respective disease of target organ being added according to dose .

Because with exposure of dose of 10 Gy (grey) or less, as for the target organ it is a bone marrow , with hypoleukocytemia haemorrhage tendency etc appears with the infection , thrombocytopenia , are times which do not administer appropriate treatment and with to die each.

更に、10Gy 以上の被爆では、骨髄障害が高度となり、その線量が増加するにつれて、消化器障害も加わって、症状は一層重篤なものとなる。

【0004】

一方、これらの症状には、無菌室への患者の収容、抗生物質の投与、成分輸血等の治療法がとられているが、これらは決定的な治療法ではなく、放射線被曝による生体への有害効果から生体を防護する薬剤、つまり放射線防護剤の開発が望まれている。

従来、放射線防護活性を有するものとして、メルカプト基を有する化合物、シアン化合物、アミン、ホルモン、キレート化剤等が知られているが、多糖体で放射線防護活性を有するものとしては、 β -(1 \rightarrow 3)-グルカン、グルコマンナンが知られているのみであり、また放射線被曝により低下した血小板生成造血機能を改善する作用を有するものは知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、放射線防護活性を有する新規多糖体を提供することを目的とする。

前述のとおり、急性放射線症候群では、骨髄障害が認められ、顕著に血球細胞(白血球、血小板等)の分化増殖を含む造血機能の抑制が生じることが広く知られている。

従って、この造血機能を改善する作用を有する薬物は、放射線防護剤として有用である。

【0006】

そこで、本発明者等は、造血機能を改善する作用を有する医薬を見い出すべく鋭意研究を重ねた結果、当帰から得られた新規多糖体が血小板生成造血機能を改善する作用を有することを見い出し、本発明を完成するに至った。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明は、以下の発明を包含する。

(1)アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクツロン酸及びグルクロン酸を、それぞれ 1 モル%以上構成糖として含み、分子量

Furthermore, as with radiation sickness of 10 Gy or more, bone marrow disorder becomes high-level, dose increases, also digestive organ disorder joining, disease more becomes severe ones.

【0004】

On one hand, accommodation of patient to sterile room, dosage and component transfusion or other treatment method of antibiotic are taken in these disease, but these are not deterministic treatment method, with radiation exposure protection is done development of drug, clogging radiation protection agent which is desired organism from detrimental effect to organism.

Until recently, compound, cyanide compound, amine, hormone, chelating agent etc which possesses mercapto group as possesses radiation protection activity, is informed, but the; β -(1 & 3)-glucan, glucomannan only is known with, as for those which possess action which improves blood platelet formation hematopoiesis performance which decreases in addition by radiation exposure is not known as possesses radiation protection activity with polysaccharide.

【0005】

【Problems to be Solved by the Invention】

this invention designates that novel polysaccharide which possesses radiation protection activity is offered as objective.

Aforementioned sort, with acute radiation syndrome, it can recognize bone marrow disorder, it is known widely that control of hematopoiesis function which includes the differentiation multiplication of erythrocyte (leukocyte, blood platelet etc) in remarkable occurs.

Therefore, as for drug which possesses action which improves this hematopoiesis performance, it is useful as radiation protection agent.

【0006】

Then, this inventor etc in order that it starts to be to look at pharmaceutical which possesses action which improves hematopoiesis performance result of diligent research, discovering fact that it possesses action where the novel polysaccharide which is acquired from Japanese angelica root improves blood platelet formation hematopoiesis performance, this invention reached to completion.

【0007】

【Means to Solve the Problems】

this invention includes invention below.

Respectively as 1 mole % or more constituent sugar including (1) arabinose, galactose, glucose, rhamnose, galacturonic acid and glucuronic acid, the polysaccharide where

が $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体。

(2)更に、マンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース及び 2-メチルキシロースを構成糖として含む前記(1)に記載の多糖体。

【0008】

(3)構成糖のモル比が、アラビノース 10.0~30.0、ガラクトース 10.0~30.0、マンノース 0.5~4.0、グルコース 2.5~15.0、ラムノース 7.0~18.0、ガラクトン酸 17.0~47.0、グルクロン酸 3.0~11.0、フコース 0.5~2.5、2-メチルフコース 0.01~0.6、キシロース 0.2~2.0、2-メチルキシロース 0.3 以下である前記(2)に記載の多糖体。

【0009】

(4)構成糖のモル比が、アラビノース約 13.0、ガラクトース約 12.1、マンノース約 1.8、グルコース約 3.8、ラムノース約 15.0、ガラクトン酸約 46.0、グルクロン酸約 5.6、フコース約 0.8、2-メチルフコース約 0.4、キシロース約 1.3、2-メチルキシロース約 0.2 で、分子量が約 2.6×10^5 である前記(3)に記載の多糖体。

【0010】

(5)構成糖のモル比が、アラビノース約 29.3、ガラクトース約 22.8、マンノース約 0.8、グルコース約 5.8、ラムノース約 14.7、ガラクトン酸約 20.4、グルクロン酸約 3.4、フコース約 1.2、2-メチルフコース約 0.03、キシロース約 1.3、2-メチルキシロース約 0.2 で、分子量が約 8.8×10^5 である前記(3)に記載の多糖体。

【0011】

(6)構成糖のモル比が、アラビノース約 20.3、ガラクトース約 28.5、マンノース約 2.8、グルコース約 7.7、ラムノース約 7.7、ガラクトン酸約 19.5、グルクロン酸約 10.9、フコース約 1.5、2-メチルフコース約 0.02、キシロース約 1.0、2-メチルキシロース約 0.02 で、分子量が約 8.8×10^4 である前記(3)に記載の多糖体。

(7)更に、マンノース、フコース、キシロース及び 2-メチルキシロースを構成糖として含む前記(1)に記載の多糖体。

【0012】

molecular weight is $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$

(2) Furthermore, mannose, fucose, 2-methyl fucose, xylose and 2-methyl xylose polysaccharide, which is stated in aforementioned (1) which it includes as constituent sugar

【0008】

mole ratio of (3) constituent sugar, polysaccharide, which is stated in the aforementioned (2) which is an arabinose 10.0~30.0, galactose 10.0~30.0, mannose 0.5~4.0, glucose 2.5~15.0, rhamnose 7.0~18.0, galacturonic acid 17.0~47.0, glucuronic acid 3.0~11.0, fucose 0.5~2.5, 2-methyl fucose 0.01~0.6, xylose 0.2~2.0, 2-methyl xylose 0.3 or less

【0009】

mole ratio of (4) constituent sugar, arabinose approximately 13.0, galactose approximately 12.1, mannose approximately 1.8, glucose approximately 3.8, rhamnose approximately 15.0, galacturonic acid approximately 46.0, glucuronic acid approximately 5.6, fucose approximately 0.8 and 2-methyl fucose approximately 0.4, xylose approximately 1.3 and 2-methyl xylose with approximately 0.2, polysaccharide, which is stated in aforementioned (3) where molecular weight is approximately 2.6×10^5

【0010】

mole ratio of (5) constituent sugar, arabinose approximately 29.3, galactose approximately 22.8, mannose approximately 0.8, glucose approximately 5.8, rhamnose approximately 14.7, galacturonic acid approximately 20.4, glucuronic acid approximately 3.4, fucose approximately 1.2 and 2-methyl fucose approximately 0.03, xylose approximately 1.3 and 2-methyl xylose with approximately 0.2, polysaccharide, which is stated in aforementioned (3) where molecular weight is approximately 8.8×10^5

【0011】

mole ratio of (6) constituent sugar, arabinose approximately 20.3, galactose approximately 28.5, mannose approximately 2.8, glucose approximately 7.7, rhamnose approximately 7.7, galacturonic acid approximately 19.5, glucuronic acid approximately 10.9, fucose approximately 1.5 and 2-methyl fucose approximately 0.02, xylose approximately 1.0 and 2-methyl xylose with approximately 0.02, polysaccharide, which is stated in aforementioned (3) where molecular weight is approximately 8.8×10^4

(7) Furthermore, mannose, fucose, xylose and 2-methyl xylose polysaccharide, which is stated in aforementioned (1) which it includes as constituent sugar

【0012】

(8)構成糖のモル比が、アラビノース 10.0~30.0、ガラクトース 10.0~30.0、マンノース 0.5~4.0、グルコース 2.5~15.0、ラムノース 7.0~18.0、ガラクトン酸 17.0~47.0、グルクロン酸 3.0~11.0、フコース 0.5~2.5、キシロース 0.2~2.0、2-メチルキシロース 0.3 以下である前記(7)に記載の多糖体。

【0013】

(9)構成糖のモル比が、アラビノース約 24.7、ガラクトース約 19.4、マンノース約 1.4、グルコース約 3.3、ラムノース約 17.7、ガラクトン酸約 23.0、グルクロン酸約 8.8、フコース約 1.2、キシロース約 0.4、2-メチルキシロース約 0.01 以下で、分子量が約 8.6×10^5 である前記(8)に記載の多糖体。

【0014】

(10)構成糖のモル比が、アラビノース約 22.1、ガラクトース約 17.9、マンノース約 3.2、グルコース約 14.4、ラムノース約 11.2、ガラクトン酸約 18.1、グルクロン酸約 9.6、フコース約 1.9、キシロース約 1.6、2-メチルキシロース約 0.01 以下で、分子量が約 8.6×10^5 である前記(8)に記載の多糖体。

【0015】

(11)構成糖結合様式として、1,2 結合ラムノース、1,2,4 分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5 結合アラビノフラノース、1,3,5 分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6 結合ガラクトース、1,4 結合ガラクトース、1,4,6 分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び 1,4 結合ガラクトン酸を含む前記(1)~(10)のいずれかに記載の多糖体。

【0016】

(12)前記(1)~(11)のいずれかに記載の多糖体を有効成分として含有する放射線防護剤。

(13)当帰の抽出物を有効成分として含有する放射線防護剤。

(14)当帰の抽出物が熱水抽出エキスである前記(13)に記載の放射線防護剤。

【0017】

(15)有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である前記(13)に記載

mole ratio of (8) constituent sugar , polysaccharide . which is stated in theaforementioned (7) which is a arabinose 10.0~30.0, galactose 10.0~30.0, mannose 0.5~4.0, glucose 2.5~15.0, rhamnose 7.0~18.0, galacturonic acid 17.0~47.0, glucuronic acid 3.0~11.0, fucose 0.5~2.5, xylose 0.2~2.0, 2-methyl xylose 0.3 or less

【0013】

mole ratio of (9) constituent sugar , arabinose approximately 24.7, galactose approximately 19.4, mannose approximately 1.4, glucose approximately 3.3, rhamnose approximately 17.7, galacturonic acid approximately 23.0, glucuronic acid approximately 8.8, fucose approximately 1.2, xylose approximately 0.4 and 2-methyl xylose with approximately 0.01 or less, polysaccharide . which is stated in theaforementioned (8) where molecular weight is approximately $8.6 \times 10^{>5}</sup>$

【0014】

mole ratio of (10) constituent sugar , arabinose approximately 22.1, galactose approximately 17.9, mannose approximately 3.2, glucose approximately 14.4, rhamnose approximately 11.2, galacturonic acid approximately 18.1, glucuronic acid approximately 9.6, fucose approximately 1.9, xylose approximately 1.6 and 2-methyl xylose with approximately 0.01 or less, polysaccharide . which is stated in theaforementioned (8) where molecular weight is approximately $8.6 \times 10^{>5}</sup>$

【0015】

As (11) constituent sugar bonding mode , 1 and 2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and thedescription above which 1 and 4-bond galacturonic acid is included (1) - polysaccharide . which is stated in any of (10)

【0016】

(12) description above (1) - radiation protection agent . which contains polysaccharide which is stated in any of (11) as active ingredient

radiation protection agent . which contains extract of (13) Japanese angelica root as active ingredient

radiation protection agent . which is stated in aforementioned (13) where extract of (14) Japanese angelica root is hot water extraction extract

【0017】

radiation protection agent . which is stated in aforementioned (13) which is a polysaccharide of water-soluble where (15)

の放射線防護剤。

(16)有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である前記(13)に記載の放射線防護剤。

[0018]

本発明の多糖体は、前記の性質を有しており、このような多糖体に関する発表は全くなされていらないことから、本発明の多糖体は新規な多糖体であると認められる。

本発明の多糖体は、例えば次のようにして得ることができる。

まず、当帰、原植物であるセリ科のトウキ又はその他近縁植物を破碎し、10~20 倍量程度の水性溶剤にて抽出し、抽出液をろ過して得たる液を遠心分離し、上清を凍結乾燥して乾燥物を得る。

抽出に用いる水性溶剤としては、水、特に精製水が好ましく、抽出にあたっては熱時抽出が好ましい。

[0019]

この乾燥物をアセトン、メタノール、エタノール等の有機溶媒に溶解し、場合によっては還流した後、遠心分離して脂質成分を除いた沈殿物を精製水に溶解し、更に透析を行い、非透析物を凍結乾燥して粗画分を得る。

透析に際しては、流水又は精製水に対し 2~5 日間程度行えばよい。

次いで、得られた粗画分を更にイオン交換クロマトグラフィー等で精製する。

イオン交換クロマトグラフィーの担体の具体例としては、DEAE-セファロース(Sephacel) CL-6B等が挙げられ、溶出に用いる水性溶媒としては、水、希薄な無機塩水溶液(例えば塩化ナトリウム、塩化カリウム等の水溶液)、弱酸性水溶液(例えば 0.05 モルまでの酢酸、0.05 モルまでのシュウ酸等)が挙げられる。

[0020]

また、本発明の多糖体を更に精製するには、ゲルろ過法を合わせて行えばよく、その担体の具体例としては、セファロース CL-6B、セファロース CL-4B が挙げられ、溶離液としては無機塩水

active ingredient is acquired from hot water extraction extract of Japanese angelica root

radiation protection agent, which is stated in aforementioned (13) which is a water insoluble polysaccharide where (16) active ingredient is acquired from hot water extraction extract of Japanese angelica root

[0018]

polysaccharide of this invention has had aforementioned property, as for the announcement regarding polysaccharide a this way from fact that you have not done completely, polysaccharide of this invention is recognized when it is a novel polysaccharide.

It can acquire polysaccharide of this invention, for example following way.

First, Angelica acutiloba Kitagawa of Umbelliferae which is a Japanese angelica root, field plant or in addition fragmenting it does closely related plant, extracts with aqueous solvent of 10 -20 volumes extent, filters extracted liquid and centrifugal separation it does filtrate which is acquired, lyophilizing does supernatant and obtains dried matter.

Water and especially purified water are desirable as aqueous solvent which is used for extraction, at time of heat extraction is desirable at time of extraction.

[0019]

It melts this dried matter in acetone, methanol, ethanol or other organic solvent, when depending, reflux after doing, centrifugal separation doing, precipitate which excludes lipid component it melts in purified water, furthermore does dialysis, lyophilizing does non-dialysate and obtains fraction roughly.

In case of dialysis, 2 - 5 day extent it should have done vis-a-vis the running water or purified water.

fraction which next, is acquired furthermore is refined roughly with ion exchange chromatography etc.

As embodiment of carrier of ion exchange chromatography, you can list DEAE-Sephacel (Sephacel) CL-6B, etc water and dilute inorganic saline solution (for example sodium chloride, potassium chloride or other aqueous solution), you can list weak acidity aqueous solution (oxalic acid etc to acetic acid, 0.05mole to for example 0.05mole) as aqueous solvent which is used for elution.

[0020]

In addition, polysaccharide of this invention furthermore is refined, if the gel filtration method together should have been done, can list Sephadex CL-6B, Sephadex CL-4B as embodiment of carrier, uses inorganic saline solution etc as

溶液等を用いる。

以上のようにして得られる本発明の多糖体は、アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクツロン酸及びグルクロン酸を、それぞれ 1 モル%以上構成糖として含むものであるが、更にマンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース、2-メチルキシロースを構成糖として含んでいてもよく、また、その他、アピオース等を微量構成糖として含んでいてもよい。

[0021]

本発明の多糖体及び当帰の抽出物は、優れた造血機能改善作用を有し、放射線防護剤として、放射線被曝による障害の治療及び予防に使用される。

本発明の放射線防護剤の有効成分である当帰の抽出物は、古くから漢方処方構成生薬として使用されており、安全性は確立されている。

即ち、ddY ウィスター系マウスに経口で限界投与量(15g/匹)を投与しても死亡例は認められない。

本発明の多糖体も当帰の抽出物から得られるものであり、同様に安全性が高いと考えられる。

[0022]

本発明の多糖体の放射線防護剤としての有効投与量は、患者の年齢、体重、症状又は放射線被曝の程度により異なるが、通常成人で 1 回 50~100mg を 1 日 1~3 回の内服、あるいは 1 回 10~20mg を 1 日 1~3 回の静脈注射、筋肉内注射が適当である。

また、有効成分として熱水抽出エキス等の当帰の抽出物を用いる場合は、通常成人で 1 回 2~15g を 1 日 1~3 回の内服が適当である。

[0023]

また、本発明の多糖体等を放射線防護剤として用いるにあたり、本発明の多糖体等に通常の製剤に用いられる賦形剤、補助剤等を加えて製剤製法の常法に従って、注射剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤及びシロップ剤等の製剤として用いることもできる。

経口投与のために少なくとも一種の賦形剤、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニト、カルボキシメチルセルロース等を用いて錠剤、丸剤、カプ

eluting liquid .

polysaccharide of this invention which is acquired like above, arabinose , galactose , glucose , rhamnose , galacturonic acid and the glucuronic acid , is something which it includes respectively as 1 mole % or more constituent sugar , but furthermore it is possible to include mannose , fucose , 2-methyl fucose , xylose , 2- methyl xylose , as constituent sugar in addition, in addition, [apioosu] etc to include it is possible as the trace amount constituent sugar .

[0021]

polysaccharide of this invention and extract of Japanese angelica root have hematopoiesis functional improving action which is superior, are used for treatment and the prevention of disorder with radiation exposure as radiation protection agent .

extract of Japanese angelica root which is a active ingredient of radiation protection agent of this invention is used, as configuration natural medicine of for a long time Chinese herbal medicine formulation safety is established.

Namely, prescribing limit dose (15 g/animals) to ddYWistar mouse with oral ,death example is not recognized.

Being something where also polysaccharide of this invention is acquired from the extract of Japanese angelica root , it is thought that safety is high in sameway.

[0022]

As for effective dose as radiation protection agent of polysaccharide of this invention , different ,one time 50~100mg oral administration , or one time 10~20mg of 1 day 1~thrice vein injection , intramuscular injection of 1 day 1~thrice issuitable with normal adult with age , body weight , disease of patient or extent of radiation exposure .

In addition, when extract of hot water extraction extract or other Japanese angelica root is used as active ingredient , the one time 2~15g oral administration of 1 day 1~thrice is suitable with normal adult .

[0023]

In addition, when it uses polysaccharide etc of this invention , as radiation protection agent following to conventional method of formulation production method including vehicle , auxiliary agent etc which is used for conventional formulation for polysaccharide etc of this invention , it is possible also to use as injectable , powder , fine granule , granule , tablets , capsules and syrup or other formulation .

Because of oral dosage formulation is possible to tablets , pill , capsules , powder , granule etc making use of vehicle , for example starch , lactose , sucrose , mannitol ,

セル剤、散剤、顆粒剤等に処方することができる。

【0024】

この種の製剤には、適宜前記賦形剤の他に、例えばステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、タルク等の滑沢剤、デキストリン、結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、トウモロコシデンプン、ゼラチン等の結合剤、バレイシヨデンプン、カルボキシメチルセルロール等の崩壊剤を使用することができる。

【0025】

また、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤として投与することができ、これら剤型には、矯味矯臭剤、着色剤を含有してもよい。

非経口用製剤として、適当な基剤と混和してクリーム、軟膏剤、パップ剤、注射剤又は坐剤とすることができる。

希釈剤として一般に注射用蒸留水、生理食塩水、デキストロース水溶液、注射用植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等を用いることができる。

更に必要に応じて、適宜等強化剤、溶解補助剤、安定剤、防腐剤、無痛化剤等を加えてもよい。

また、この種の剤型の場合、滅菌された注射用媒体に溶解することが望ましい。

【0026】

【実施例】

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明の範囲はこれにより何ら制限されるものではない。

(実施例 1)

粗多糖体の分離

当帰(奈良県産)500gを10リットルの精製水を用いて半量になるまで煎じ、ステンレスメッシュでろ過や遠心分離により、煎じ液と残渣とに分けた。

残渣は、再び 7 リットルの精製水を用いて同様の方法により煎じ、煎じ液と残渣を得た。

得られた煎じ液を合わせて凍結乾燥することにより、熱水抽出エキス 251.78g を得た。

この熱水抽出エキスを 3 リットルのメタノールを

carboxymethyl cellulose etc of at least one kind .

【0024】

for example magnesium stearate , sodium lauryl sulfate , talc or other lubricant , dextrin , crystalline cellulose , polyvinyl pyrrolidone , gum arabic , cornstarch , gelatin or other binder , [bareishiyodenpun] , carboxymethyl cellulose jpl1 or other disintegrating agent can be used for other than as neededaforementioned vehicle , in formulation of this kind.

【0025】

In addition, as suspension , emulsion , syrup , elixir it is possible, is possible to these drug form ,to contain corrective , colorant to prescribe.

As formulation for parenteral , mixing with suitable base , it can make the cream , ointment , poultice , injectable or suppository .

injectable distilled water , physiological saline , dextrose aqueous solution , injectable vegetable oil , propylene glycol , polyethylene glycol etc can be used generally as diluent .

Furthermore including according to need , as needed isotonic agent , solubilizer , stabilizer , antiseptic , anesthetic etc it is good.

In addition, in case of drug form of this kind, it is desirable to melt in injectable media which sterilization is done.

【0026】

[Working Example(s)]

this invention is explained concretely below, with Working Example , but range of this invention is not something which is restricted because of this.

(Working Example 1)

It is rough separation of polysaccharide

Japanese angelica root (Nara Prefecture product) 500 g until it becomes half , making use of the purified water of 10 liter it decocted, with stainless steel mesh it divided with into the decoction liquid and residue due to filtration and centrifugal separation .

It decocted residue , with similar method making use of purified water of 7 liter again, acquired decoction liquid and residue .

hot water extraction extract 251.78g was acquired by lyophilizing doing decoction liquid which itacquires together.

this hot water extraction extract was divided into extracted

用いて 1 時間還流後、遠心分離することにより抽出液と残渣に分け、残渣についてこの操作を 3 回繰り返した。

最終的に得られた残渣を精製水に溶解後、水道水で 3 日間、次いで精製水で 3 日間、セルロース製半透膜(ビスキング社製)を用いて透析した。

非透析性画分を遠心分離することにより沈殿を除去後、上清を凍結乾燥することにより非透析性のメタノール不溶性-水可溶性の粗多糖体画分 27.21g を得た。

【0027】

透析前の残渣(メタノール不溶性画分)、非透析性のメタノール不溶性-水可溶性の粗多糖体画分、沈殿物として得られた非透析性のメタノール不溶性-水不溶性の粗多糖体画分及びメタノール可溶性画分についてマウス腹腔内投与により放射線防護活性を検討した結果、透析前の残渣(メタノール不溶性画分)3.8mg/匹投与では危険率 5%未満で、非透析性のメタノール不溶性-水可溶性の粗多糖体画分 10.0mg/匹投与及び沈殿物として得られた非透析性のメタノール不溶性-水不溶性の粗多糖体画分 5.0mg/匹投与では危険率 1%未満で、有意に(対照群には生理食塩水を投与)放射線照射による血小板低下が抑制されたが、メタノール可溶性画分では血小板低下の抑制は観察されなかった。

【0028】

(実施例 2)

多糖体のイオン交換クロマトグラフィー及びゲルろ過クロマトグラフィーによる精製

(1)実施例 1 で得た水可溶性の粗多糖体 2.0g を精製水 200ml に溶解後、この溶液を水で平衡化した DEAE-セファロース CL-6B(Cl⁻ 型)カラムに添加し、未吸着画分を精製水で溶出させることにより除去した。

カラムに吸着した画分について、50mM NaCl 水溶液、100mM NaCl 水溶液、200mM NaCl 水溶液、250mM NaCl 水溶液、300mM NaCl 水溶液、2M NaCl 水溶液で順次溶出させた。

(2)300mM NaCl 水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥することにより、300mM NaCl

liquid and residue 1 hour reflux later, by centrifugal separation doing making use of methanol of 3 liter, this operation thrice was repeated concerning residue.

finally residue which is acquired in purified water after melting, with tap water 3 -day period, next dialysis was done with purified water 3 -day period, cellulose semipermeable membrane making use of (bis King supplied).

Non- dialysis characteristic methanol insolubility -water-soluble polysaccharide fraction 27.21g was acquired roughly by centrifugal separation doing non- dialysis characteristic fraction precipitation after removing, by lyophilizing doing supernatant.

【0027】

residue before dialysis (methanol insolubility fraction), roughly as polysaccharide fraction, precipitate of non-dialysis characteristic methanol insolubility -water-soluble non- dialysis characteristic methanol insolubility -water insoluble which it acquires roughly concerning polysaccharide fraction and methanol solubility fraction residue before result and dialysis which examined radiation protection activity with mouse intraperitoneal administration (methanol insolubility fraction) with 3.8 mg /animals dosages under risk rate 5%, Non- dialysis characteristic methanol insolubility -water insoluble which it acquires roughly as polysaccharide fraction 10.0mg /animals dosage and precipitate of non- dialysis characteristic methanol insolubility -water-soluble with polysaccharide fraction 5.0mg /animals dosage under risk rate 1%, blood platelet decrease was controled roughly significantly with (It prescribes physiological saline to control group) irradiation, but with methanol solubility fraction you did not observe control of blood platelet decrease.

【0028】

(Working Example 2)

It refines with ion exchange chromatography and gel filtration chromatography of polysaccharide

It added to DEAE-Sepharose CL-6B (Cl⁻ type) column where water-soluble which is acquired with (1) Working Example 1 polysaccharide 2.0g in purified water 200ml after melting, equilibration does this solution roughly with water, it removed by liquating unadsorbed fraction with purified water.

sequential it liquated with 50 mM NaCl aqueous solution, 100mM NaCl aqueous solution, 200mM NaCl aqueous solution, 250mM NaCl aqueous solution, 300mM NaCl aqueous solution, 2M NaCl aqueous solution concerning fraction which adsorbs into column.

(2) fraction which is liquated with 300 mM NaCl aqueous solution dialysis and by the lyophilizing doing, it acquired

溶出多糖体画分(平均収率:3.8%)を放射線防護活性多糖体画分として得た。

【0029】

得られた多糖体画分 100mg を 0.2M NaCl 水溶液 3ml に溶解後、0.2M NaCl 水溶液で平衡化したセファロース CL-6B カラムに添加し、0.2M NaCl 水溶液を用いて 5.2ml ずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、ウロン酸の比色定量と 280nm での紫外部吸収を測定し、分子量 $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分及び分子量 5.0×10^5 以上の多糖体を含む画分を得た。

【0030】

分子量 $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロース CL-6B カラムを用いて、分子量約 2.6×10^5 の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体(本発明の多糖体(I))を得た(粗多糖体画分からの収率:0.24%)。

本発明の多糖体(I)は、Asahi-Pak GS510+GS320 を用いた GPC カラムによる HPLC により、単一の多糖体であることが確認された。

【0031】

本発明の多糖体(I)の性質を以下に示す。

- (a)性状:白色繊維状
- (b)分子量:約 2.6×10^5
- (c)構成糖及びモル比
- アラビノース:約 13.0
- ガラクトース:約 12.1
- マンノース:約 1.8
- グルコース:約 3.8
- ラムノース:約 15.0
- ガラクトン酸:約 46.0
- グルクロン酸:約 5.6
- フコース:約 0.8

300 mM NaCl liquation polysaccharide fraction (average yield :3.8%) as radiation protection activity polysaccharide fraction .

[0029]

In 0.2 M NaCl aqueous solution 3ml after melting, it added polysaccharide fraction 100mg which it acquires to Sepharose CL-6B column which equilibration is done with 0.2 M NaCl aqueous solution , fraction 5.2 ml each it did making use of 0.2 M NaCl aqueous solution .

colorimetry of sugar , uronic acid and ultraviolet absorption with 280 nm were measured concerning each eluate which it acquires, fraction which includes the polysaccharide of molecular weight $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ and fraction which includes polysaccharide above the molecular weight 5.0×10^5 were acquired.

[0030]

polysaccharide (I) of this invention was acquired (It is rough yield :0.24% from polysaccharide fraction). To refine fraction which includes polysaccharide of molecular weight approximately 2.6×10^5 fraction which includes polysaccharide of the molecular weight $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ after dialysis , with similar method making use of Sepharose CL-6B column for second time, by dialysis , lyophilizing doing this fraction , refining radiation protection polysaccharide

As for polysaccharide (I) of this invention , it was verified with GPC column which uses Asahi-Pa kG S510+GS320 that it is a single polysaccharide with HPLC .

[0031]

property of polysaccharide (I) of this invention is shown below.

- (a) properties :white fibrous
- (b) molecular weight : approximately 2.6×10^5
- (c) constituent sugar and mole ratio
- arabinose : approximately 13.0
- galactose : approximately 12.1
- mannose : approximately 1.8
- glucose : approximately 3.8
- rhamnose : approximately 15.0
- galacturonic acid : approximately 46.0
- glucuronic acid : approximately 5.6
- fucose : approximately 0.8

2-メチルフコース:約 0.4

キシロース:約 1.3

2-メチルキシロース:約 0.2

(d)構成糖結合様式:1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合アラビノフラノース、1,3,5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6結合ガラクトース、1,4結合ガラクトース、1,4,6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び1,4結合ガラクツロン酸を含む。

【0032】

また、分子量 5.0×10^5 以上の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロース CL-6B カラムを用いて、分子量約 8.6×10^5 の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体(本発明の多糖体(III))を得た(粗多糖体画分からの収率:0.13%)。

本発明の多糖体(III)は、Asahi-Pak GS710+GS620を用いた GPC カラムによる HPLC により、単一の多糖体であることが確認された。

【0033】

本発明の多糖体(III)の性質を以下に示す。

(a)性状:白色繊維状

(b)分子量:約 8.6×10^5

(c)構成糖及びモル比

アラビノース:約 24.7

ガラクトース:約 19.4

マンノース:約 1.4

グルコース:約 3.3

ラムノース:約 17.7

ガラクツロン酸:約 23.0

グルクロン酸:約 8.8

フコース:約 1.2

キシロース:約 0.4

2-メチルキシロース:約 0.01 以下

(d)構成糖結合様式:1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合

2-methyl fucose : approximately 0.4

xylose : approximately 1.3

2-methyl xylose : approximately 0.2

(d) constituent sugar bonding mode :1,2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and 1 and 4 -bond galacturonic acid are included.

【0032】

In addition, fraction which includes polysaccharide of molecular weight approximately 8.6×10^5 fraction which includes polysaccharide above the molecular weight 5.0×10^5 after dialysis , with similar method making use of Sepharose CL-6B column for second time , was refined , refining radiation protection polysaccharide (polysaccharide of this invention (III)) was acquired by dialysis , lyophilizing doing this fraction , (It is rough yield :0.13% from polysaccharide fraction).

As for polysaccharide (III) of this invention , it was verified with GPC column which uses Asahi-Pak GS710+GS620 that it is a single polysaccharide with HPLC .

【0033】

property of polysaccharide (III) of this invention is shown below.

(a) properties :white fibrous

(b) molecular weight : approximately 8.6×10^5

(c) constituent sugar and mole ratio

arabinose : approximately 24.7

galactose : approximately 19.4

mannose : approximately 1.4

glucose : approximately 3.3

rhamnose : approximately 17.7

galacturonic acid : approximately 23.0

glucuronic acid : approximately 8.8

fucose : approximately 1.2

xylose : approximately 0.4

2-methyl xylose : approximately 0.01 or less

(d) constituent sugar bonding mode :1,2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5

アラビノフラノース、1,3,5 分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6 結合ガラクトース、1,4 結合ガラクトース、1,4,6 分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び 1,4 結合ガラクトン酸を含む。

(3)(1)において 50mM NaCl 水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥することにより、50mM NaCl 溶出多糖体画分(平均収率:3.86%)を放射線防護活性多糖体画分として得た。

[0034]

得られた多糖体画分 200mg を 0.2M NaCl 水溶液 2ml に溶解後、0.2M NaCl 水溶液で平衡化したセファロース CL-6B カラムに添加し、0.2M NaCl 水溶液を用いて 5.2ml ずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、ウロン酸の比色定量と 280nm での紫外部吸収を測定し、分子量 2.0×10^5 以上の多糖体を含む画分を得た。

[0035]

この画分を透析後、再度同様の方法によりセファロース CL-6B カラムを用いて、分子量約 8.8×10^5 の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体(本発明の多糖体(II))を得た(粗多糖体画分からの収率:0.11%)。

本発明の多糖体(II)は、Asahi-Pak GS710+GS620 を用いた GPC カラムによる HPLC により、単一の多糖体であることが確認された。

[0036]

本発明の多糖体(II)の性質を以下に示す。

- (a)性状:白色繊維状
- (b)分子量:約 8.8×10^5
- (c)構成糖及びモル比
- アラビノース:約 29.3
- ガラクトース:約 22.8
- マンノース:約 0.8
- グルコース:約 5.8
- ラムノース:約 14.7

connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and 1 and 4 -bond galacturonic acid are included.

fraction which is liquated with 50 mM NaCl aqueous solution in (3) (1) dialysis and by lyophilizing doing, it acquired 50 mM NaCl liquation polysaccharide fraction (average yield :3.86%) as the radiation protection activity polysaccharide fraction .

[0034]

In 0.2 M NaCl aqueous solution 2ml after melting, it added polysaccharide fraction 200mg which it acquires to Sepharose CL-6B column which equilibration is done with 0.2 M NaCl aqueous solution , fraction 5.2 ml each it did making use of 0.2 M NaCl aqueous solution .

colorimetry of sugar , uronic acid and ultraviolet absorption with 280 nm were measured concerning each eluate which it acquires, fraction which includes the polysaccharide above molecular weight 2.0×10^5 was acquired.

[0035]

polysaccharide (II) of this invention was acquired (It is rough yield :0.1 1% from polysaccharide fraction). this fraction after dialysis , with similar method making use of the Sepharose CL-6B column for second time, to refine fraction which includes the polysaccharide of molecular weight approximately 8.8×10^5 , by dialysis , lyophilizing doing the this fraction , refining radiation protection polysaccharide

As for polysaccharide (II) of this invention , it was verified with GPC column which uses Asahi-Pa kG S710+GS620 that it is a single polysaccharide with HPLC .

[0036]

property of polysaccharide (II) of this invention is shown below.

- (a) properties :white fibrous
- (b) molecular weight : approximately 8.8×10^5
- (c) constituent sugar and mole ratio
- arabinose : approximately 29. 3
- galactose : approximately 22. 8
- mannose : approximately 0. 8
- glucose : approximately 5. 8
- rhamnose : approximately 14. 7

ガラクトuron酸:約 20.4

グルクロン酸:約 3.4

フコース:約 1.2

2-メチルフコース:約 0.03

キシロース:約 1.3

2-メチルキシロース:約 0.2

(d)構成糖結合様式:1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合アラビノフラノース、1,3,5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6結合ガラクトース、1,4結合ガラクトース、1,4,6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトuron酸及び1,4結合ガラクトuron酸を含む。

(4)(1)において2M NaCl水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥することにより、2M NaCl溶出多糖体画分(平均収率:4.83%)を放射線防護活性多糖体画分として得た。

[0037]

得られた多糖体画分200mgを0.2M NaCl水溶液2mlに溶解後、0.2M NaCl水溶液で平衡化したセファロース CL-6Bカラムに添加し、0.2M NaCl水溶液を用いて5.2mlずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、uron酸の比色定量と280nmでの紫外吸収を測定し、分子量 $10.0\sim 3.0\times 10^5$ の多糖体を含む画分及び分子量 $25.0\sim 1.0\times 10^4$ の多糖体を含む画分を得た。

[0038]

分子量 $10.0\sim 3.0\times 10^5$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロース CL-6Bカラムを用いて、分子量約 8.6×10^5 の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体(本発明の多糖体(IV))を得た(粗多糖体画分からの収率:0.56%)。

本発明の多糖体(IV)は、Asahi-Pak GS710+GS620を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

[0039]

galacturonic acid : approximately 20.4

glucuronic acid : approximately 3.4

fucose : approximately 1.2

2-methyl fucose : approximately 0.03

xylose : approximately 1.3

2-methyl xylose : approximately 0.2

(d) constituent sugar bonding mode :1,2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and 1 and 4 -bond galacturonic acid are included.

fraction which is liquated with 2 M NaCl aqueous solution in (4) (1) dialysis and by lyophilizing doing, it acquired 2 M NaCl liquation polysaccharide fraction (average yield :4.83%) as radiation protection activity polysaccharide fraction .

[0037]

In 0.2 M NaCl aqueous solution 2ml after melting, it added polysaccharide fraction 200mg which it acquires to Sepharose CL-6B column which equilibration is done with 0.2 M NaCl aqueous solution , fraction 5.2 ml each it did making use of 0.2 M NaCl aqueous solution .

colorimetry of sugar , uronic acid and ultraviolet absorption with 280 nm were measured concerning each eluate which it acquires, fraction which includes the polysaccharide of molecular weight $10.0\sim 3.0\times 10^5$ and fraction which includes polysaccharide of molecular weight $25.0\sim 1.0\times 10^4$ were acquired.

[0038]

polysaccharide (IV) of this invention was acquired (It is rough yield :0.56% from polysaccharide fraction). To refine fraction which includes polysaccharide of molecular weight approximately 8.6×10^5 fraction which includes polysaccharide of the molecular weight $10.0\sim 3.0\times 10^5$ after dialysis , with similar method making use of Sepharose CL-6B column for second time, by dialysis , lyophilizing doing this fraction , refining radiation protection polysaccharide

As for polysaccharide (IV) of this invention , it was verified with GPC column which uses Asahi-Pak GS710+GS620 that it is a single polysaccharide with HPLC .

[0039]

本発明の多糖体(IV)の性質を以下に示す。

(a)性状:茶褐色繊維状

(b)分子量:約 8.6×10^5

(c)構成糖及びモル比

アラビノース:約 22.1

ガラクトース:約 17.9

マンノース:約 3.2

グルコース:約 14.4

ラムノース:約 11.2

ガラクツロン酸:約 18.1

グルクロン酸:約 9.6

フコース:約 1.9

キシロース:約 1.6

2-メチルキシロース:約 0.01 以下

(d)構成糖結合様式:1,2 結合ラムノース、1,2,4 分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5 結合アラビノフラノース、1,3,5 分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6 結合ガラクトース、1,4 結合ガラクトース、1,4,6 分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び 1,4 結合ガラクツロン酸を含む。

【0040】

また、分子量 $25.0 \sim 1.0 \times 10^4$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロース CL-6B カラムを用いて、分子量約 8.8×10^4 の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体(本発明の多糖体(V))を得た(粗多糖体画分からの収率:0.51%)。

本発明の多糖体(V)は、Asahi-Pak GS510+GS320 を用いた GPC カラムによる HPLC により、単一の多糖体であることが確認された。

【0041】

本発明の多糖体(V)の性質を以下に示す。

(a)性状:茶褐色繊維状

(b)分子量:約 8.8×10^4

property of polysaccharide (IV) of this invention is shown below.

(a) properties :brown fibrous

(b) molecular weight : approximately 8.6×10^5

(c) constituent sugar and mole ratio

arabinose : approximately 22.1

galactose : approximately 17.9

mannose : approximately 3.2

glucose : approximately 14.4

rhamnose : approximately 11.2

galacturonic acid : approximately 18.1

glucuronic acid : approximately 9.6

fucose : approximately 1.9

xylose : approximately 1.6

2-methyl xylose : approximately 0.01 or less

(d) constituent sugar bonding mode :1,2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and 1 and 4 -bond galacturonic acid are included.

【0040】

polysaccharide (V) of this invention was acquired (It is rough yield :0.51% from polysaccharide fraction). In addition, to refine fraction which includes polysaccharide of molecular weight approximately 8.8×10^4 fraction which includes polysaccharide of the molecular weight $25.0 \sim 1.0 \times 10^4$ after dialysis , with similar method making use of Sepharose CL-6B column for second time, by dialysis , lyophilizing doing this fraction , refining radiation protection polysaccharide

As for polysaccharide (V) of this invention , it was verified with GPC column which uses Asahi-Pak GS510+GS320 that it is a single polysaccharide with HPLC .

【0041】

property of polysaccharide (V) of this invention is shown below.

(a) properties :brown fibrous

(b) molecular weight : approximately 8.8×10^4

(c)構成糖及びモル比

アラビノース:約 20.3

ガラクトース:約 28.5

マンノース:約 2.8

グルコース:約 7.7

ラムノース:約 7.7

ガラクトン酸:約 19.5

グルクロン酸:約 10.9

フコース:約 1.5

2-メチルフコース:約 0.02

キシロース:約 1.0

2-メチルキシロース:約 0.02

(d)構成糖結合様式:1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合アラビノフラノース、1,3,5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6結合ガラクトース、1,4結合ガラクトース、1,4,6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び1,4結合ガラクトン酸を含む。

【0042】

(実施例 3)

X線照射したマウスへの影響

(1)動物

緑膿菌に感染していない正常マウス(ICR系、雄)を4週齢で購入し、6週齢まで飼育室(温度24±1 deg C、湿度60±10%、100%新鮮外気)で飼育慣らし(使用時平均体重:30g)。

1 ケージ当たり 10 匹で飼育した。

半数(5 匹)の背中に、95%エタノールに溶かしたピクリン酸を筆で塗って標識し、薬物投与群とした。

標識のない 5 匹のマウスを対照群とした。

実験には、2 ケージ(20 匹)のマウスを用いた。

【0043】

(2)X線照射及び薬物の投与

マウスを1匹ずつ、呼吸のために小さな穴をいくつかあけたカプセルにいれ、照射台上に10カプセルを放射状に配置して回転照射した。

(c) constituent sugar and mole ratio

arabinose : approximately 20.3

galactose : approximately 28.5

mannose : approximately 2.8

glucose : approximately 7.7

rhamnose : approximately 7.7

galacturonic acid : approximately 19.5

glucuronic acid : approximately 10.9

fucose : approximately 1.5

2-methyl fucose : approximately 0.02

xylose : approximately 1.0

2-methyl xylose : approximately 0.02

(d) constituent sugar bonding mode : 1,2 bond rhamnose , 1, 2, 4 branches rhamnose , end arabino furanose , 1, 5 connection arabino furanose , 1, 3, 5 min * arabino furanose , end galactose , 1,6-bond galactose , 1,4-bond galactose , 1, 4, 6 branches galactose , end glucose , end galacturonic acid and 1 and 4 -bond galacturonic acid are included.

【0042】

(Working Example 3)

X-ray influence to mouse which was irradiated

(1) animal

In *Pseudomonas aeruginosa* it purchased normal mouse (ICR system, male) which infection has not been done with 4-week old, to 6 weeks old raised with breeding room (temperature 24±1 deg C, humidity 60±10%, 100% fresh external air) and trained (When using average body weight :30g).

Per 1 * di breeding it did with 10 animals .

In back of half (5 animals), painting picric acid which was melted in 95% ethanol with writing brush, labelling it did, made drug-administered group .

mouse of 5 animals which do not have labelling was designated as the control group .

mouse of 2 * di (20 animals) was used to experiment .

【0043】

(2) X-ray lighting and dosage of drug

mouse, 1 animals at a time you inserted in capsule which small hole many was opened for breathing, on lighting table arranged 10 capsule in radial and it turned irradiated.

X 線 照 射 は 、 260kV 、 15.5mA 、 0.3mmCu+0.5mmAl フィルター、毎分 0.50Gy(グレイ)の条件で5.5Gy(11 分間)の全身照射を行った。

照射終了後、マウスをカプセルから出し、インシュリン注射用注射器を使用して、照射後 4 分以内に、薬物投与群には 0.2~0.5ml の薬剤、対照群には薬剤の溶解に用いた溶媒(生理的食塩水)を腹腔内注射した。

【0044】

(3)血小板の計測

X 線照射 14 日後に、マウスの頸部を解剖用ハサミで切断し、噴出する血液を血液凝固防止剤のエチレンジアミン四酢酸・2 カリウム塩を入れたプラスチック製シャーレに採取した。

採取の数分後に、多項目血球計数装置(SysmexK-1000、東亜医用電子株式会社製)で計数して血小板数を求めた。

薬物投与群と対照群(各々10 匹)の差の有無は、t 検定で行った。

危険率 5%未満の場合を有意差あり(有効)と判断した。

結果を表 1 に示す。

【0045】

【表 1】

X-ray lighting irradiated 5.5 Gy (11 min) whole body with condition of 260 kV , 15.5mA , 0.3mm Cu +0.5mm Al filter , each minute 0.50Gy (grey).

After lighting ending, mouse was put out from capsule , insulin injectable syringe was used, after irradiating within 4 min , in drug-administered group solvent (physiological saline)which is used for melting drug intraperitoneal injection was done in drug , control group of 0.2 - 0.5 ml .

【0044】

Measurement of (3) blood platelet

After X-ray lighting 14 day, it cut off neck portion of mouse with scissors for dissection, blood which jet is done itrecovered in plastic petri dish which inserted ethylenediamine tetraacetic acid *dipotassium salt of blood coagulation preventing agent .

After several minutes of recovery, counting doing with multi item blood cell counting device (SysmexK-1000, Toa medical electron KK make),it sought number of platelets .

It did presence or absence of difference of drug-administered group and control group (Each 10 animals), with the T-test .

There was a significant difference and (Validity) with judged when it is under risk rate 5%.

Result is shown in Table 1 .

【0045】

[Table 1]

実験No.	X 線 照 射	投 与 薬 物	投 与 量 (mg/匹)	血小板数* ($\times 10^4/\mu l$)
0	無 (正常マウス)	生理的食塩水	—	156.91 \pm 4.91
1	有	生理的食塩水	—	39.88 \pm 6.49
		多糖体 (I)	1.5	68.93 \pm 8.49**
2	有	生理的食塩水	—	28.97 \pm 4.56
		多糖体 (II)	0.97	56.43 \pm 6.81**
3	有	生理的食塩水	—	41.48 \pm 4.71
		多糖体 (III)	0.93	78.35 \pm 10.92**
4	有	生理的食塩水	—	35.82 \pm 3.70
		多糖体 (IV)	0.95	81.59 \pm 10.79**
5	有	生理的食塩水	—	34.85 \pm 5.21
		多糖体 (V)	0.93	64.35 \pm 6.38**

* 平均値 \pm 標準誤差 [SD / (N - 1)^{1/2}]

** 危険率 2 % 以下

【0046】

表 1 に示す結果から、本発明の多糖体が顕著な増血機能改善作用有することがわかる。

(実施例 4)

実施例 2 で得られた本発明の多糖体 30g を微結晶セルロース 155g 及びステアリン酸マグネシウム 5g と混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠して直径 7mm、重量 190mg の錠剤を製造した。

本錠剤 1 錠中には実施例 2 で得られた本発明の多糖体 30mg が含有されている。

本錠剤は症状にあわせて 1 回 2~3 錠を 1 日 3 回服用する。

【0047】

(実施例 5)

実施例 2 で得られた本発明の多糖体 10g をトウモロコシデンプン 490g と混合し水を加えて練合し、1mm \times 1mm の網目を有するスクリーンにて造粒して乾燥し顆粒剤とした。

本顆粒剤 1g 中には実施例 2 で得られた本発明の多糖体 20mg が含有されている。

本顆粒剤は症状にあわせて 1 回 3~5g を 1 日 3 回服用する。

【0046】

From result which is shown in Table 1 , polysaccharide of this invention marked increase blood functional improving action possessing you understand.

(Working Example 4)

polysaccharide 30g of this invention which is acquired with Working Example 2 was mixed with microcrystalline cellulose 155g and magnesium stearate 5g, this mixture pill-making was done with single shot type pill making machine and tablets of diameter 7mm , weight 190mg was produced.

polysaccharide 30mg of this invention which is acquired with Working Example 2 is contained in this tablets 1 pill .

Adjusting to disease , one time 2~3 pill 1 day thrice administration it does this tablets .

【0047】

(Working Example 5)

It mixed polysaccharide 10g of this invention which is acquired with Working Example 2 with cornstarch 490g and kneading combination it did including water, the granulating doing with screen which possesses network of 1 mm X 1mm , it dried and made granule .

polysaccharide 20mg of this invention which is acquired with Working Example 2 is contained in this granule 1g.

Adjusting to disease , one time 3~5g 1 day thrice

回服用する。

【0048】

(実施例 6)

実施例 2 で得られた本発明の多糖体 20g を乳糖 70g 及びステアリン酸マグネシウム 10g と混合し、500mg ずつ硬カプセルに充填した。

本カプセル剤 1 カプセル中には実施例 2 で得られた本発明の多糖体 100mg が含有されている。

本カプセル錠は症状にあわせて 1 回 1 カプセルを 1 日 2~3 回服用する。

【0049】

(実施例 7)

実施例 2 で得られた本発明の多糖体 10g を水 80ml に溶解し、オレンジエッセンス 2ml 及び単シロップを加えて全量 1000ml のシロップ剤とした。

本シロップ剤 1ml 中には実施例 2 で得られた本発明の多糖体 10mg が含有されている。

本シロップ剤は症状にあわせて 1 回 5~10ml を 1 日 3 回服用する。

【0050】

(実施例 8)

実施例 2 で得られた本発明の多糖体 5g を注射剤製造の常法に従って、注射用蒸留水 1 リットルに溶解し、塩化ナトリウムを加えることにより等張化し、10ml ずつバイアルに分注して注射剤とした。

本注射剤 1ml 中には、実施例 2 で得られた本発明の多糖体 5mg が含有されている。

本注射剤は症状にあわせて 1 回 2~4ml を 1 日 3 回静脈注射又は筋肉内注射する。

【0051】

【発明の効果】

本発明によれば、造血機能を改善する作用を有し、放射線防護剤として有用な新規多糖体を提供することができる。

administration it does this granule .

【0048】

(Working Example 6)

It mixed polysaccharide 20g of this invention which is acquired with Working Example 2 with lactose 70g and magnesium stearate 10g, was filled in hard capsule 500 mg each.

polysaccharide 100mg of this invention which is acquired with Working Example 2 is contained in this capsules 1 capsule .

Adjusting to disease , one time 1 capsule 1 day 2~thrice administration it does this capsule pill .

【0049】

(Working Example 7)

It melted polysaccharide 10g of this invention which is acquired with Working Example 2 in water 80 ml , it made syrup of total amount 1000ml including orange essence 2ml and single syrup .

polysaccharide 10mg of this invention which is acquired with Working Example 2 is contained in this syrup 1ml .

Adjusting to disease , one time 5~10ml 1 day thrice administration it does this syrup .

【0050】

(Working Example 8)

Following polysaccharide 5g of this invention which is acquired with Working Example 2 to conventional method of injectable production, it melted in injectable distilled water 1 liter , to isotonic it converted by adding sodium chloride , aliquot did in vial and 10 ml each made injectable .

polysaccharide 5mg of this invention which is acquired with Working Example 2 is contained in this injectable 1ml .

Adjusting to disease , one time 2~4ml 1 day thrice vein injection or intramuscular injection it does this injectable .

【0051】

[Effects of the Invention]

According to this invention , it possesses action which improves hematopoiesis performance, it can offer useful novel polysaccharide as radiation protection agent .